

⑤

Int. Cl. 2:

C 07 D 309-14

①⑨ BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

A 61 K 31-35

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 24 46 640 A1

①⑪

Offenlegungsschrift 24 46 640

②①

Aktenzeichen:

P 24 46 640.8

②②

Anmeldetag:

30. 9. 74

④③

Offenlegungstag:

11. 12. 75

③⑩

Unionspriorität:

③② ③③ ③①

29. 5. 74 Frankreich 7418556

⑤④

Bezeichnung:

Neue Gentamicinderivate, Verfahren zur Herstellung derselben und diese enthaltende antibiotisch wirksame Zusammensetzungen

⑦①

Anmelder:

Laboratorios Hosbon S.A., Barcelona (Spanien)

⑦④

Vertreter:

Tiedtke, H., Dipl.-Ing.; Bühling, G., Dipl.-Chem.; Kinne, R., Dipl.-Ing.; Pat.-Anwälte, 8000 München

⑦②

Erfinder:

Jurado Soler, Alberto; Ortig Hernandez, Jose A.; Ciuro Bertran, Carlos; Barcelona (Spanien)

gepat. m. d. r. i. s. pat. DL. v. 15. 4. 76

Analoge Anmeldung siehe

DE OS 25 17 600

Anmeldetag 21. 4. 75

DT 24 46 640 A1

PATENTANWALTSBÜRO

TIEDTKE - BÜHLING - KINNE

TEL. (089) 5396 53-56 TELEX: 524 845 tipat CABLE ADDRESS: Germaniapatent München

8000 München 2

Bavariaring 4

Postfach 202403, 30. September 1974

B 6238

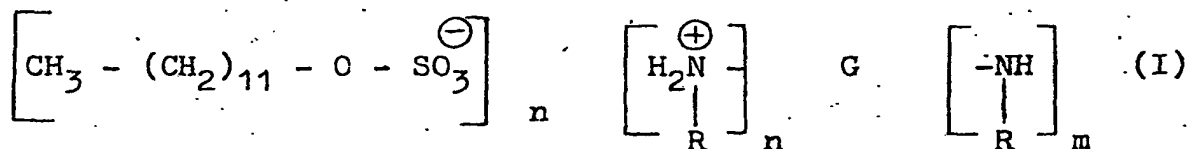
2446640-

Laboratorios Hosbon, S.A.

Barcelona, Spanien

Neue Gentamicinderivate, Verfahren zur Herstellung derselben
und diese enthaltende antibiotisch wirksame
Zusammensetzungen

Gegenstand der Erfindung sind neue therapeutisch und
im Veterinärbereich nützliche Gentamicinderivate der all-
gemeinen Formel



in der n von 1 bis 5 und m von 0 bis 4 variieren können,
wobei die Summe von beiden stets gleich 5 ist, R = H oder
CH₃ sein kann und G den Rest eines Gentamicinmoleküls be-
deutet, wobei hier selbstverständlich die allgemeine Be-
zeichnung "Gentamicin" die verschiedenen als Gentamicine

bekannten antibiotischen Aminoglykoside umfassen soll, von denen die gängigsten die Gentamicine C_1 , C_2 und C_{1A} sind, die jeweils 5 NHR-Gruppen pro Molekül enthalten, deren Substituent R bei (den) einzelnen Produkten verschieden ist, wobei $R = CH_3$ beim Gentamicin C_1 und Wasserstoff bei den Gentamicinen C_2 und C_{1A} ist.

Die Erfindung umfaßt weiter ein Verfahren zur Herstellung der neuen Derivate der Formel (I) sowie antibiotisch wirksame Zusammensetzungen, insbesondere pharmazeutische Mittel, die diese Derivate enthalten und insbesondere in einer für parenterale oder topische bzw. lokale Verabreichung geeigneten Form vorliegen.

Es ist bekannt, daß das Gentamicin ein aus Mikromonospora Sp. isoliertes Antibiotikum ist, das gegen gramnegative Organismen einschließlich Aerobacter Sp., Klebsiella pneumoniae, Salmonella Sp., Escherichia coli wirkt aber speziell gegenüber Pseudomonas- und Proteusbakterien sowie auch gegenüber einigen grampositiven Organismen wie beispielsweise den Stämmen des Staphylococcus aureus und diversen beta-hämolytischen Streptokokken, so daß das Gentamicin für die Behandlung von infektiösen Erkrankungen von großem therapeutischem Interesse ist, die durch Mikroorganismen hervorgerufen werden, welche gegenüber anderen antibiotischen Mitteln resistent und diesen gegenüber empfindlich sind.

Das Fehlen von gentamicinresistenten Keimen führt in der Realität zu einer Abwandlung des Begriffs vom antibiotischen Mittel mit breitem Spektrum und seine Wirksamkeit gegenüber Proteus- und Pseudomonasbakterien macht es zu einem antibiotischen Mittel der Wahl für die Behandlung von schweren Infektionskrankheiten mit auf Schwierigkeiten stoßender sofortiger klinischer und bakteriologischer Diagnose.

Das in Form eines wasserlöslichen Sulfats verwendete Gentamicin wird auf oralem Wege kaum absorbiert, während die Resorption bei intramuskulärer Verabreichung rasch ist und nach 0,5 bis 1 Stunden zu maximalen und sehr hohen Konzentrationen im Serum, nach Ablauf von 6 bis 8 Stunden jedoch zu sehr niedrigen subtherapeutischen Werten führt, was zu einer alle 8 Stunden wiederholten Verabreichung zwingt.

Die mit der Verabreichung von Gentamicin verbundenen toxischen Erscheinungen sind bekannt (renal, Wirkung auf das achte Paar der Gehirnnerven usw.) und werden bei gleichzeitigem Bestehen einer Niereninsuffizienz verstärkt und sie hängen von der Konzentration im Organismus ab, was eine individuelle und genaue Dosierung nötig macht.

Aus allen diesen Gründen wäre ein Gentamicinderivat, dessen pharmakokinetische Eigenschaften eine für thera-

apeutische Zwecke ausreichende "Bio-Verfügbarkeit" ohne Herbeiführung (durch eine relativ überhöhte Dosierung) der unerwünschten Effekte des Gentamicinsulfats ermöglichen würden, von hohem Interesse. Ein solches Derivat sollte mithin langsam resorbiert werden, anhaltende therapeutische Konzentrationen liefern und von geringerer Toxizität sein.

Die Anmelderin hat nun festgestellt, daß die neuen Gentamincinderivate der Formel I, die durch partielle oder vollständige Neutralisation der basischen Gruppen durch n-Dodecyl-schwefelsäure erhalten werden, d.h. Verbindungen sind, bei denen $n = 1$ und $m = 4$ bis $n = 5$ und $m = 0$ sind, bei parenteraler Verabreichung unter den gleichen Bedingungen und in den gleichen Dosen wie das Gentamicin selbst Resorptionskurven von äquivalenten Flächen liefern, die jedoch ein Konzentrationsmaximum mit deutlich verzögerter Abnahme haben, das sich nach rechts (zu längeren Zeiten hin) verschiebt, wenn n von 1 bis 5 verändert wird, unter Ausbildung von zeitlich zunehmend anhaltenden Konzentrationen im Blut.

Es konnte auch beobachtet werden, daß der Rhythmus der Aufnahme dieser einzelnen Derivate in einem gewissen Maße abhängig von dem oder den für die Verabreichung angewandten Lösungsmittel(n) modifiziert werden kann, entsprechend dem mehr oder minder lipophilen Charakter und

der Mischbarkeit und/oder Emulgierbarkeit mit Wasser (der Lösungsmittel).

Alle diese Abwandlungsfaktoren ermöglichen eine Auswahl des oder der Derivate(s) unter den neuen erfindungsgemäßen Verbindungen, das bzw. die-intramuskulär mit den angemessenen Lösungsmitteln verabreicht-einen den verfolgten Zwecken angepaßten Absorptionsrhythmus bietet bzw. bieten, wobei gleichzeitig die Nachteile der klinischen Verabreichung von Gentamicin (alle 8 Stunden) vermieden werden, die je nach Dosis entweder zu übermäßig erhöhten Konzentrationen in den ersten Stunden (mit dem Risiko von toxischen Erscheinungen) oder zu ungenügenden Konzentrationen des Antibiotikums im Blut in der einer erneuten Verabreichung vorangehenden Periode führen würde.

Eine Verbindung, mit der besonders günstige Ergebnisse erzielt wurden, ist die Verbindung der Formel I, bei der n gleich 3 ist: Diese liefert nämlich sowohl kurz nach ihrer Verabreichung als auch längere Zeit danach zufriedenstellende Konzentrationen im Serum.

Bei Ratten mit den erfindungsgemäßen Produkten und Gentamicinsulfat als Vergleichsprodukt durchgeführte Versuche ergaben die in Tabelle I wiedergegebenen Gentamicinkonzentrationen. Bei diesen Versuchen wurde jedes Produkt

an Gruppen von 5 Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 150 und 200 g intramuskulär verabreicht und zwar Lösungen von Gentamicinsulfat in Wasser bzw. der erfindungsgemäßen Produkte in einem alkoholischen Lösungsmittel mit einer solchen Konzentration, daß 0,1 ml Lösung pro 100 g Körpergewicht verabreicht werden konnte. Die in Tabelle I angegebenen Werte für die Dosis und die Serumkonzentration sind für alle Produkte auf die Gentamicin-Base umgerechnet.

Die Blutentnahmen erfolgten durch Herzpunktion bei Anästhesie der Tiere mit Äther. Die Bestimmungen wurden mit *Bacillus Pumilus* NCTC 8241, bezogen auf eine Einheit Sulfat, durchgeführt.

TABELLE I

Gentamicinkonzentrationen im Blut bei Ratten

(bei 5 Tieren erhaltene Mittelwerte)

untersuchte Produkte	Stunden						
	1	2	4	6	8	12	16
Gentamicin- sulfat	20	8,5	1,9	0,9	0,5	0,2	0,2
Derivat (I) mit n = 1	17	12,9	4,2	2,5	1,4	0,5	0,4
n = 2	13,6	10,1	6,7	4,0	2,7	1,3	0,8
n = 3	12	9,7	7,9	5,1	3,2	1,9	1,1
n = 4	7,9	9,0	7,4	5,5	4,1	2,0	0,9
n = 5	4,4	5,3	5,8	5,7	5,5	2,9	0,8

Die Dosen entsprachen 25 mg Gentamicin-Base pro Kilogramm. Die Ergebnisse sind in μg Gentamicin-Base pro ml Plasma angegeben.

Wie den Aufnahmewerten zu entnehmen ist, nimmt die Fortdauer der Konzentrationen zu, wenn n zunimmt, während die Maximalwerte abnehmen und sich nach rechts (zu längeren Zeiten hin) verschieben.

Nachfolgend werden Versuchsergebnisse mitgeteilt, die

den Einfluß des lipophilen Charakters des Lösungsmittels auf die Serumkonzentrationen und mithin den Rhythmus der Aufnahme (bei der Verbindung der Formel I mit $n = 5$) zeigen.

TABELLE II

Gentamicinkonzentrationen im Serum bei der Ratte

(bei 5 Tieren gewonnene Mittelwerte)

Stunden	Alkohol	Äthyl- Lactat	lipophiles Lösungs- mittel (40 % Tetra- glykol + 60 % Labra- fil) dispergierbar in Wasser	lipophiles Lösungs- mittel (40 % Tetra- glykol + 60 % Äthyl- oleat)
1	4,4	4,9	4,6	3,2
3	5,7	5,3	3,6	3,3
6	5,4	5,1	2,8	2,9
12	2,6	2,5	1,8	2,1
16	0,8	0,6	1,2	1,4

Die Dosen entsprachen 25 mg Gentamicin-Base pro kg. Die Ergebnisse sind in μg Gentamicin-Base pro ml Plasma angegeben.

Wie man sieht, werden mit zunehmend lipophilem Charakter des Lösungsmittels niedrigere und stärker anhaltende Konzentrationen im Blut erhalten.

Die akute Toxizität der erfindungsgemäßen Produkte bei subkutaner Verabreichung an Mäuse ist geringer als diejenige

von Gentamicinsulfat (für diese Versuche wurden ausgewachsene Tiere mit einem Gewicht zwischen 20 und 25 g verwendet).

DL ₅₀	(Gentamicin-sulfat)	= 485 mg/kg
DL ₅₀	(Derivat I mit n = 1)	= 660 ± 52 mg/kg
DL ₅₀	(Derivat I mit n = 2)	≈ 1000 mg/kg
DL ₅₀	(Derivat I mit n = 3)	> 1000 mg/kg
DL ₅₀	(Derivat I mit n = 4)	> 1000 mg/kg
DL ₅₀	(Derivat I mit n = 5)	> 1000 mg/kg

Die Ergebnisse sind in Gentamicin-Base ausgedrückt.

Die neuen Verbindungen gemäß der Erfindung werden vorzugsweise in der klinischen Praxis in Form von Lösungen oder Mischungen mit Lösungsmitteln und/oder inerten Exzipienten, Stabilisatoren usw. in irgendeiner für ihre Anwendung geeigneten Form vorzugsweise parenteral oder topisch bzw. lokal verabreicht, d.h. als Lösungen oder Suspensionen, Cremes, Pomaden, Lotionen usw.

Grundmasse

Für die parenterale Verabreichung kann man als Lösungsmittel oder Exzipienten rein oder kombiniert Monoalkohole, Polyole, Polyglykole, Furfuryläther, Dioxolane, synthetisch Ester oder polyoxyäthylenhaltige Öle verwenden.

Wenn schließlich eine topische Anwendung gewünscht wird, können die neuen Gentamicinderivate in Form von Cremes, Pomaden und Lotionen vom Typ Öl in Wasser oder Wasser in Öl, wasserfreien Pomaden und alkoholischen oder nicht-alkoholischen Lotionen zur Anwendung kommen, die Fettalkohole, Fette und tierische, pflanzliche und synthetische Wachse, Mineral- und Pflanzenöle, Polyole, (anionische, kationische, nicht-ionische oder ampholytische), oberflächenaktive Mittel, Konservierungsmittel usw. enthalten können.

Die tägliche Dosis dieser neuen Gentamicinderivate liegt bei parenteraler Verabreichung zwischen 27000 und 500000 Einheiten Gentamicin (normalerweise in einer einzelnen Verabreichung).

Die Dosis bei topischer Anwendung kann sehr unterschiedlich sein, je nach Schwere der Infektion und zu behandelnder Ausdehnung.

Nachfolgend werden einige Beispiele von parenteral bzw. topisch zu verabreichenden pharmazeutischen Präparaten angegeben.

Dabei werden die Mengen der Gentamicinderivate in Gewicht des 100 % reinen Produktes angegeben, bei dem die Gehalte an

Gentamicin-penta(n-dodecyl-sulfat) bei 269 U/mg (Einheiten/mg), an Tetra(n-dodecyl-sulfat) bei 316 U/mg und an Tri-(n-dodecyl-sulfat) bei 382 U/mg liegen. Je nach wirklicher Konzentration des Produktes müssen entsprechende Korrekturen angebracht werden.

I Injizierbare Präparate

1) Penta(n-dodecyl-sulfat) von Gentamicin	0,740 g
Tetraglykol (Tetrahydrofurfuryloxid von Äthylenglykol)	1,2 ml
Äthyloleat q.s.p.	4 ml
2) Tri(n-dodecyl-sulfat) von Gentamicin	0,526 g
Transcutol (Diäthylenglykoläthyloxid)	1,6 ml
Labrafil (polyoxyäthylenierte Oleinsäure-glyceride)	4 ml
3) Tetra(n-dodecyl-sulfat) von Gentamicin	0,633 g
Äthyllactat	1 ml
Äthyloleat	4 ml

II Cremes bzw. Salben für topische Anwendung

A) "waschechte" Cremes vom Typ Öl/Wasser

1) Tri(n-dodecyl-sulfat) von Gentamicin	0,526 g
auto-emulgierbares Glycerinmonostearat	14 g
fadenziehende Vaseline (White Petrolatum) ...	21 g
Glycerin	3 g
Methylparaben	0,100 g

2446640

Propylparaben	0,020 g
entionisiertes Wasser q.s.p.	100 g
2) Penta(n-dodecyl-sulfat) von Gentamicin	0,740 g
Cetylalkohol	18 g
Bienenwachs	2 g
Glycerin	9 g
Natriumlaurylsulfat	1 g
Methylparaben	0,100 g
Propylparaben	0,020 g
entionisiertes Wasser q.s.p.	100 g
 B) <u>Creme vom Typ Wasser/Öl</u>	
Tetra(n-dodecyl-sulfat) von Gentamicin	0,633 g
fadenziehende Vaseline	36 g
"Arlacel C"	6 g
Bienenwachs	4 g
Methylparaben	0,100 g
Propylparaben	0,020 g
entionisiertes Wasser q.s.p.	100 g

Die neuen Gentamicinderivate der Formel (I) werden gemäß der Erfindung durch Umsetzung von Gentamicin (frei oder in Form von Säureadditionssalz, vorzugsweise Sulfat) mit n-Dodecyl-schwefelsäure (frei oder in Form von Metall- oder ggf. substituiertem Ammoniumsalz) in einem inerten Lösungsmittel wie Wasser, den Alkoholen oder ihren Mischungen erhalten. Die Gentamicin-Base sowie die n-Dodecyl-schwefel-

509850/0956

säure können frei durch Durchleiten der Lösung ihrer Salze durch Ionenaustauscherharze (anionische oder kationische) in wässrigen, alkoholischen oder gemischten Lösungsmitteln erhalten werden.

Die Derivate, bei denen $n = 1, 2, 3$ oder 4 ist, können ebenfalls durch Reaktion eines Derivats, bei dem n einen höheren Wert als beim zu erzielenden Produkt hat, in einem inerten Lösungsmittel und vorzugsweise in niederen Alkoholen wie Methanol, Äthanol oder Isopropanol mit einer starken Base wie z.B. den Alkalihydroxiden oder -alkoholaten in ausreichender Menge zur partiellen Neutralisierung der n -Dodecylschwefelsäurereste je nach zu erzielendem Derivat und Entfernung des unlöslichen Metall- n -dodecylsulfats oder auch mit der erforderlichen Menge an freiem Gentamicin erhalten werden (welch letzteres wie oben beschrieben oder "in situ" ausgehend von seinem Salz mit einer Säure, vorzugsweise dem Sulfat, in wässriger Lösung und Neutralisation mit einer starken Base und späterer Entfernung des unlöslichen Metallsulfats erhalten wird).

Bei Verwendung eines organischen Lösungsmittels wird das gewünschte Produkt durch Eindampfen desselben bis zur Trockne normalerweise in einem Rotationsverdampfer unter Vakuum isoliert.

Das Produkt, bei dem $n = 5$ ist, wird vorzugsweise - in Anbetracht seiner großen Unlöslichkeit - in wässrigem Milieu präpariert und durch Filtrieren oder Zentrifugieren und Waschoperationen isoliert. Das zurückgehaltene Wasser wird dann entweder durch Trocknen im Vakuum in Gegenwart eines dehydratisierenden Mittels oder durch Auflösen des erhaltenen Rohproduktes in einem Lösungsmittel, das mit Wasser eine azeotrope Mischung bilden kann wie Äthanol oder Isopropanol und Eindampfen unter vermindertem Druck bis zur Trockne vorzugsweise in einer rotierenden Vorrichtung erhalten.

Die folgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfindung.

Beispiel 1

Zu 2 l destilliertem Wasser in einem 10 l Behälter gibt man unter Rühren und mit gleicher Geschwindigkeit eine Lösung von 100 g Gentamicinsulfat mit 30,35 % Sulfat (0,316 Mol), 7,73 % Wasser (nach Karl Fischer) und 637 Einheiten/mg in 1,5 l destilliertem Wasser sowie eine Lösung von 186 g 98 %igem Natrium-n-dodecyl-sulfat (0,632 Mol) in 1,5 l destilliertem Wasser. Es bildet sich ein Niederschlag in Form von kleinen Klümpchen, der nach 1 Stunde zusätzlichem Rühren abfiltriert, 2 bis 3mal mit destilliertem Wasser gewaschen und im Vakuum-Trockenschrank bei weniger

als 5 Torr 3 Stunden lang in Gegenwart von P_2O_5 getrocknet wird.

Das Produkt wird zerrieben und unter den gleichen Bedingungen 6 weitere Stunden lang getrocknet und man erhält so 221 g Gentamicin-penta(n-dodecyl-sulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruch- und geschmacklosen Pulvers, das in Dimethylsulfoxid, Methanol, Äthanol und Isopropanol löslich und in Wasser, Aceton, Hexan und Petroläther unlöslich ist. Sein Wassergehalt (nach Karl Fischer) liegt bei 2,5 %. Es schmilzt unter Zersetzung ausgehend von $160^{\circ}C$; $[\alpha]_D^{25} = + 44,2^{\circ}$ (4 %ig in Äthanol; umgerechnet auf wasserfreies Produkt); sein IR-Spektrum (in einer KBr-Tablette, die durch Verreiben der Mischung mit Äthanol unter einer IR-Lampe bei der Herstellung der Tablette erhalten wird) zeigt Hauptmaxima bei 3340, 2920, 2850, 1225 (breit), 1070 und Nebenmaxima bei 1585, 1465, 810, 628 und 590 cm^{-1} . Das Verhältnis der Absorptionswerte der Maxima bei 3340 bzw. 2920 cm^{-1} , d.h. A_{3340}/A_{2920} liegt bei 0,126.

Gemäß Abschätzungen unter Heranziehung von *Bacillus Pumilus* NCTC 8241 in Bezug auf eine Gentamicinsulfat-Einheit hat das Produkt eine biologische Aktivität von 252 U/mg (bezogen auf das wasserfreie Produkt); die theoretische Aktivität liegt bei 256 U/mg (berechnet nach der biologischen Aktivität des Ausgangsgentamicinsulfats).

Beispiel 2

Bei gleicher Arbeitsweise wie in Beispiel 1 und mit den gleichen Mengen an Ausgangsmaterialien wurde ein Niederschlag erhalten, der abfiltriert und mehrere Male mit Wasser gewaschen und in 1 l Isopropanol gelöst wurde. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck in einer rotierenden Vorrichtung bis zur Erzielung einer steifen Paste eingedampft, die erneut in 500 ml Isopropanol gelöst wurde. Nach einem erneuten Eindampfen bis zur Erreichung des Trockenzustandes wurden 226 g des gleichen Produktes wie oben beschrieben mit einer biologischen Aktivität von 248 U/mg und einem Wassergehalt (nach Karl Fischer) von 1,2 % erhalten.

Beispiel 3

Eine Lösung von 4,8 g Gentamicin-penta(n-dodecylsulfat) (entsprechend 1.180.000 Einheiten) in 30 ml Isopropylalkohol wurde langsam und unter Rührem mit einer Mischung von 0,75 ml NaOH (4,65 n) in Methanol und 0,55 g Gentamicinsulfat (der gleichen Charge wie für Beispiel 1 verwendet wurde) gelöst in 2 ml destilliertem Wasser versetzt. Es wurde 1 Stunde lang gerührt, zur Abtrennung des unlöslichen Natriumsulfats filtriert und die Lösung unter Vakuum bis zur Trockne eingedampft. Das resultierende Produkt wurde in 25 ml Isopropanol gelöst, filtriert und erneut in einem Drehverdampfer eingetrocknet. Das erhaltene Produkt wurde zerrieben und 3 Stunden lang in einem Vakuum-

Tröckenschrank in Gegenwart von P_2O_5 getrocknet. Auf diese Weise wurden 4,5 g Gentamicintetra(n-dodecyl-sulfat) in Form eines weißen, geruch- und geschmacklosen Pulvers erhalten, das in Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Methanol, Äthanol, Isopropanol und Tetraglykol löslich und in Wasser Aceton und Hexan unlöslich ist.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 2,13 %
- Schmelzpunkt (Kapillare) : 130-140°C mit Zersetzung
- $[\alpha]_D^{25} = + 46,2^\circ$ (20 %ig in Äthanol; umgerechnet auf das wasserfreie Produkt);
- das nach dem gleichen Verfahren wie in Beispiel 1 aufgenommene IR-Spektrum zeigt die gleichen Absorptionsbanden, wobei allerdings das Verhältnis A_{3340}/A_{2920} bei 0,17 liegt.

Die nach dem gleichen Verfahren ermittelte und in gleicher Weise wie in Beispiel 1 ausgedrückte Aktivität lag bei 288 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 302 U/mg.

Beispiel 4

Zu einer Lösung von 5 g Gentamicin-penta(n-dodecyl-sulfat) (entsprechend 1.190.000 Einheiten Gentamicin) in 60 ml Isopropylalkohol wurden 5,1 ml Natriummethylat (1,08 N) gelöst in Äthanol hinzugegeben. Die Mischung wurde 0,5 Stunden lang gerührt, dann das unlösliche Natrium-n-dodecyl-sulfat abfiltriert und die Lösung in einem Rotationsverdampfer

zur Trockne gebracht. Der erhaltene Feststoff wurde zerrieben und die Trocknung im Vakuum-Trockenschrank innerhalb von 3 Stunden in Gegenwart von P_2O_5 beendet.

Auf diese Weise wurden 3 g Gentamicin-tri(n-dodecylsulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruch- und geschmacklosen Pulvers erhalten, das in Methanol, Äthanol, Isopropanol, hydroalkoholischen Mischungen und in Aceton/Wasser (8/2) löslich und in Wasser, Aceton und Hexan unlöslich ist.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) = 1,6 %;

- Schmelzpunkt (Kapillare) : $125^{\circ}C$ mit Zersetzung;

- $[\alpha]_D^{25} = + 57,0^{\circ}$ (16 %ig in Äthanol);

das in gleicher Weise wie in Beispiel 1 aufgenommene IR-Spektrum zeigt die gleichen Banden wie bei den Verbindungen von Beispiel 1 und 3 mit einem Verhältnis $A_{3340}/A_{2920} = 0,231$.

Biologische Aktivität: 334 U/mg; theoretischer Maximalwert 348 U/mg (berechnet wie zuvor).

Beispiel 5

a) Eine n-Dodecyl-schwefelsäurelösung wurde durch langsames Durchleiten einer Lösung von 5,6 g (18,96 mÄq) Natrium-n-dodecyl-sulfat in 100 ml Äthanol/Wasser (8/2) durch 50 ml stark kationisches Harz (Merck I), das vorangehend mit 100 ml 2 n HCl aktiviert und regeneriert und bis zur Erzielung eines neutralen pH-Wertes gewaschen worden war,

hergestellt. Anschließend wurde mit Äthanol/Wasser (8/2) bis zur Erzielung eines Volumens von 200 ml verdünnt:

b) Eine Lösung von 3,75 g (23,7 mÄq) Gentamicinsulfat (30,35 % von SO_4) in 30 ml Wasser/Methanol (6/4) wurde langsam durch 50 ml stark anionisches Harz (Merck III) geschickt, das vorangehend mit 100 ml 2 n NaOH aktiviert und regeneriert und bis zur Neutralisation gewaschen worden war. Das Harz wurde mit Wasser/Methanol (6/4) bis zu einem Endvolumen von 150 ml eluiert und der Eluent in einem von außen gekühlten Fläschchen gesammelt.

Diese Lösung wurde zu der nach a) erhaltenen hinzugegeben und die Mischung bis zur praktisch vollständigen Trockne in einer rotierenden Vorrichtung unter Vakuum eingedampft. Die resultierende Paste bzw. Masse wurde in 100 ml Isopropanol aufgelöst und dann erneut getrocknet. Abschließend wurde sie zerrieben und im Vakuum-Trockenschrank in Gegenwart von P_2O_5 getrocknet.

Auf diese Weise wurden 7,1 g Gentamicin-tetra(n-dodecylsulfat) mit den gleichen Eigenschaften wie das nach Beispiel 3 erhaltene Produkt und mit einem Wassergehalt (nach Karl Fischer) von 1,6 % und einer biologischen Aktivität von 273 U/mg erhalten.

Beispiel 6

Nach der gleichen Technik wie im vorangehenden Beispiel und ausgehend von 7,5 g (47,4 mÄq) Gentamicinsulfat wurde eine Gentamicin-Baselösung hergestellt und zu einer Lösung von n-Dodecyl-schwefelsäure hinzugegeben, die derjenigen von a) von Beispiel 5 genau entsprach.

Unter Beachtung der gleichen Verfahrensweise wurde das gebildete Produkt isoliert und so 9,1 g Gentamicindi(n-dodecyl-sulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruchlosen Pulvers erhalten, das in Methanol, Äthanol von 60-100 % und Tetraglykol löslich und in Wasser, Aceton und Hexan unlöslich war.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 2,5 %;
- Schmelzpunkt (Kapillare) : Zersetzung von 102°C an;
- $[\alpha]_D^{25} = + 65,80$ (12 %ig in Äthanol ; umgerechnet auf wasserfreies Produkt);

Das IR-Spektrum zeigte die gleichen Banden wie das Produkt von Beispiel 1, aber mit einem Verhältnis von $A_{3340}/A_{2920} = 0,361$.

Die wie in Beispiel 1 ermittelte biologische Aktivität lag bei 415 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 457 U/mg.

Beispiel 7

Eine Lösung von 2,95 g Gentamicinpenta(n-dodecyl-sulfat)

(entsprechend 725.000 Einheiten Gentamicin) in 30 ml Methanol wurde unter Rühren mit 3,15 g Gentamicin-Base (die durch Hindurchleiten einer wässrigen Lösung des Sulfats durch ein anionisches Harz und spätere Gefriertrocknung erhalten worden war) versetzt.

Die Mischung wurde 0,5 Stunden lang gerührt, zur Entfernung kleiner Verunreinigungen filtriert und in einem Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft. Das Produkt wurde zerrieben und in einem Vakuum-Trockenschrank 3 Stunden lang in Gegenwart von Phosphorpentoxid getrocknet.

Auf diese Weise wurden 5,3 g Gentamicinmono(n-dodecylsulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruchlosen Pulvers erhalten, das in Äthylalkohol wenig löslich, in Äthylalkohol/Wasser (1/1) löslich und in Wasser unlöslich war.

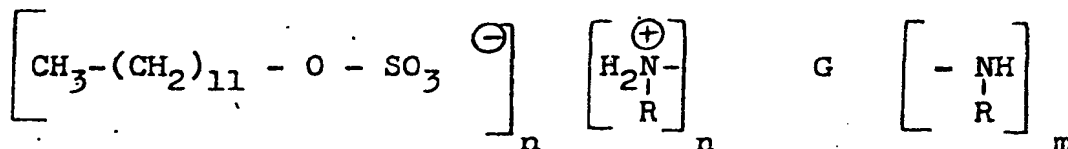
- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 3,7 %;
- Schmelzpunkt (Kapillare) : von 80°C an mit Zersetzung;
- $[\alpha]_D^{25} = + 93,40$ (10 %ig in Äthanol);

Das IR-Spektrum zeigte die gleichen Banden wie bei den vorstehenden Verbindungen und einen Wert von $A_{3340}/A_{2920} = 0,485$.

Die biologische Aktivität lag bei 557 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 619 U/mg (wie vorstehend ermittelt und ausgedrückt).

Patentansprüche

1. Neue Gentamicinderivate der allgemeinen Formel:



in der G den Rest eines Gentamicinmoleküls bedeutet, n von 1 bis 5 und m von 0 bis 4 variieren können, wobei die Summe von n + m stets gleich 5 ist und R Wasserstoff oder eine Methylgruppe sein kann.

2. Mono-, Di-, Tri-, Tetra- und Penta(n-dodecylsulfat) von Gentamicin und insbesondere Gentamicintri(n-dodecylsulfat) als Verbindungen nach Anspruch 1.

3. Verfahren zur Herstellung der Gentamicinderivate nach Anspruch 1 oder 2, d a d u r c h g e k e n n - z e i c h n e t , daß man das freie Gentamicin oder ein Säureadditionssalz desselben mit freier n-Dodecyl-schwefelsäure oder einem Metall- oder ggf. substituierten Ammoniumsalz derselben umsetzt.

4. Verfahren zur Herstellung von Gentamicinderivaten nach Anspruch 1 oder 2, bei denen n = 1,2,3 oder 4 ist, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung mit einem

höheren Wert von n, als die zu erzielende Verbindung in einem inerten Lösungsmittel mit einer Base wie einem Alkalihydroxid oder -alkoholat oder mit der Gentamicin-Base umgesetzt.

5. Antibiotisch wirksame Zusammensetzungen, insbesondere pharmazeutische Zusammensetzungen, gekennzeichnet durch einen Gehalt an zumindest einer der Verbindungen nach Anspruch 1.

6. Zusammensetzung nach Anspruch 5, gekennzeichnet durch eine pharmazeutische Form für die parenterale oder topische Anwendung.